

control muscles contracting in the solution with pO_2 98 ± 7 kPa. Steeper shape of the chronoinotropic curve was typical of papillary muscles contracting under conditions of the reduced oxygen content in the nutrient medium. It became sloping with an increase of the oxygen tension in the nutrient solution and did not practically differ from the shape of the chronoinotropic curve of control muscles.

Institute of Cardiology, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Гендвилене В. И., Нарушевичус Э. В. Влияние гипоксии и фенигидина на длительность потенциалов действия и силу сокращения миокарда лягушки. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1981, 91, № 4, с. 403—404.
2. Капелько В. И. Влияние толщины изолированных папиллярных мышц на силу их сокращения при различной частоте. — Там же, 1970, № 12, с. 6—9.
3. Мукумов М. Р., Ляхович Ю. С., Портной В. Ф. Зависимость контрактуры и степени гипоксического повреждения миокарда от содержания кальция в перфузате. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1981, № 4, с. 58—62.
4. Bing O. H. L., Brooks W. W., Inamdar A. N., Messer J. V. Tolerance of isolated heart muscle to hypoxia: turtle vs. rat. — Amer. J. Physiol., 1972, 223, N 6, p. 1481—1485.
5. Blinks J. R., Koch-Weser J. Physical factors in the analysis of the actions of drugs on myocardial contractility. — Pharmacol. Rev., 1963, 1, N 5, p. 531—559.
6. Buccino R. A., Sonnenblick E. H., Spann J. F. et al. Interactions between changes in intensity and duration of the active state in the characterisation of inotropic stimuli on heart muscle. — Circulat. Res., 1967, 21, N 6, p. 857—867.
7. Goldstein M. A., Thyrum P. T., Murphy D. L. et al. Ultrastructural and contractile characteristics of isolated papillary muscle exposed to acute hypoxia. — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1977, 9, N 4, p. 285—295.
8. Green H. L., Weisfeldt M. L. Determinants of hypoxic and posthypoxic myocardial contracture. — Amer. J. Physiol., 1977, 232, N 5, H526—H533.
9. Hoffman B. F., Kelly J. J. Effects of rate and rhythm on contraction of rat papillary muscle. — Ibid., 1959, 197, N 6, p. 1199—1204.
10. Koch-Weser J. Effects of rate changes in strength and time course of contraction of papillary muscle. — Ibid., 1963, 204, p. 451—457.
11. Lanstiola K., Metsa-Ketelä T., Vapaatalo H. Mechanism of early changes in contractility during hypoxia in spontaneously beating rat atria. — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1979, 11, N 9, Suppl. N 2, p. 33.
12. Lewis M. J., Green H. C., Henderson A. H. Determinants of hypoxic contracture in isolated heart muscle preparations. — Cardiovasc. Res., 1979, 13, N 2, p. 86—94.
13. Nayler W. G., Poole-Wilson P. A., Williams A. Hypoxia and calcium. — J. Mol. and Cell. Cardiol., 1979, 11, N 9, p. 683—706.
14. Serur J. R., Galyean J. R., Urschel Ch. W., Sonnenblick E. H. Experimental myocardial ischemia. Dynamic alterations in ventricular contractility and relaxation with dissociation of speed and force in the isovolumic dog heart. — Circulat. Res., 1976, 39, N 4, p. 603—607.
15. St. John Sutton M. G., Ritman E. L., Paradise N. F. Biphasic changes in maximum relaxation rate during progressive hypoxia in isometric kitten papillary muscle and isovolumic rabbit ventricle. — Ibid., 1980, 47, N 4, p. 516—524.
16. Taubert K., Templeton G., Willerson J. T., Shapiro W. Effects of digitalis and calcium on papillary muscles in normal and hypoxic states. — Amer. J. Physiol., 1976, 231, N 1, p. 66—72.

Киев. ин-т кардиологии

Поступила 11.07.83

УДК 612.23.273:616.001

В. А. Березовский, О. А. Бойко, Т. Н. Гридина

ВЛИЯНИЕ ДЫХАНИЯ ГЕЛИЕВО-КИСЛОРОДНЫМИ ГАЗОВЫМИ СМЕСЯМИ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ КИСЛОРОДА НА АКТИВНОСТЬ ГИДРИРУЮЩЕЙ КАРБАНГИДРАЗЫ КРОВИ КРЫС

Эндогенная (метаболическая) двуокись углерода играет существенную регуляторную роль во многих физиологических процессах. Растворенная в плазме крови и тканевой жидкости CO_2 регулирует тонус сосудов, возбудимость нервных клеток, величину pH крови, сдвигает

соотношение интенсивности обмена белков и липидов, стимулируя липогенез. Двуокись углерода является субстратом для синтеза мочевины, нуклеотидов, γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и других биологически активных веществ [5, 13, 21, 25].

Освобождение крови и тканей от избытка эндогенной CO_2 осуществляется легкими и кожей при участии фермента карбангидразы (КФ 4.2.1.1), катализирующей прямую и обратную реакции превращения субстрата. Карбангидраза, гидрирующая (КГ) регулирует экскрецию CO_2 из тканей, превращая ее в угольную кислоту, анион которой присоединяет катион калия (в эритроцитах) или натрия (в плазме) и циркулирует затем в крови в форме бикарбонатов. Карбангидраза де-гидрирующая (КД) катализирует выведение CO_2 из крови во внешнюю среду через систему внешнего дыхания [11, 25].

В последние годы возрос интерес к механизмам физиологического действия гелиево-кислородных смесей [2, 15]. Показано, что присутствие во вдыхаемом воздухе гелия может оказывать влияние на организм благодаря высокой теплопроводности этого газа [9, 18]. Большинство исследователей отмечают повышение потребления кислорода организмами в атмосфере с гелием. Данные о продукции CO_2 в этих же условиях разноречивы [2, 19].

Так как экскреция двуокиси углерода из тканей катализируется гидрирующей карбангидразой крови, целью настоящей работы было изучение влияния гелиево-кислородных газовых смесей с различным содержанием кислорода на активность этого фермента.

Методика. Исследования проведены на 184 крысах-самцах массой 200—250 г. Животных экспонировали в течение 60 мин в проточной камере объемом 5 л с поглотителем влаги и CO_2 , через которую пропускали гелиево-кислородные и азотно-кислородные газовые смеси с различным содержанием кислорода со скоростью 10 л/мин.

Исследовано влияние на активность гидрирующей карбангидразы крови дыхания в течение 60 мин пятью различными азотно-кислородными и гелиево-кислородными газовыми смесями, содержащими: 1) 21 % кислорода (нормоксия); 2) 11,2 % кислорода (умеренная гипоксия); 3) 7,4 % кислорода (гипоксическая гипоксия); 4) 40 % кислорода (умеренная гипероксия); 5) 80 % кислорода (гипероксия).

В каждой из пяти серий экспериментов исследовали три группы животных: I — интактные животные, по результатам исследования которых судили об активности гидрирующей карбангидразы крови при дыхании атмосферным воздухом; II — животные, 60 мин дышавшие азотно-кислородной газовой смесью с различным содержанием кислорода (контрольные исследования); III — животные, 60 мин дышавшие гелиево-кислородными газовыми смесями с различным содержанием кислорода.

В одной из серий дополнительно проведено промежуточное определение активности гидрирующей карбангидразы крови через 15 мин после начала дыхания гелиево-кислородной смесью, содержащей 80 % кислорода.

Активность гидрирующей карбангидразы крови крыс определяли модифицированным нами методом, основанном на принципе Е. М. Крепса [11]. Сущность модификации состоит в замене визуального способа оценки изменения индикаторно-буферной смеси (при нейтрализации ее углекислым газом) объективным колориметрическим измерением на фотоэлектроколориметре типа ФЭК-М. Активность карбангидразы оценивали по отношению времени реакции с кровью ко времени реакции в контрольной пробе и выражали в условных единицах активности (А).

Проведена статистическая обработка результатов исследований [14].

Результаты и их обсуждение. При переводе животных от дыхания воздухом к дыханию нормоксическими гелиево-кислородными смесями отмечено снижение активности гидрирующей карбангидразы крови крыс на 18 % ($p < 0,05$) по сравнению с интактными. Вдыхание гипоксических гелиево-кислородных смесей, содержащих 11,2 % кислорода ($P_{\text{O}_2} = 113$ гПа), угнетает активность гидрирующей карбангидразы крови крыс на 21,6 %. В то же время вдыхание азотно-кислородной смеси активизирует фермент на 11,8 %. Разнонаправленность изменения активности гидрирующей карбангидразы в опытной и контрольной группе

при умеренной гипоксии обуславливает существенное различие между ними (рис. 1, Г), которое составляет 33,4 % ($p < 0,02$). Гелиево-кислородные смеси с более низким парциальным давлением кислорода (75 гПа или 7,4 % O_2) угнетают активность гидрирующей карбангидразы в меньшей степени, чем смеси с 11,2 % его содержанием — всего на 9,8 %. В то же время азотно-кислородные смеси, содержащие 7,4 %

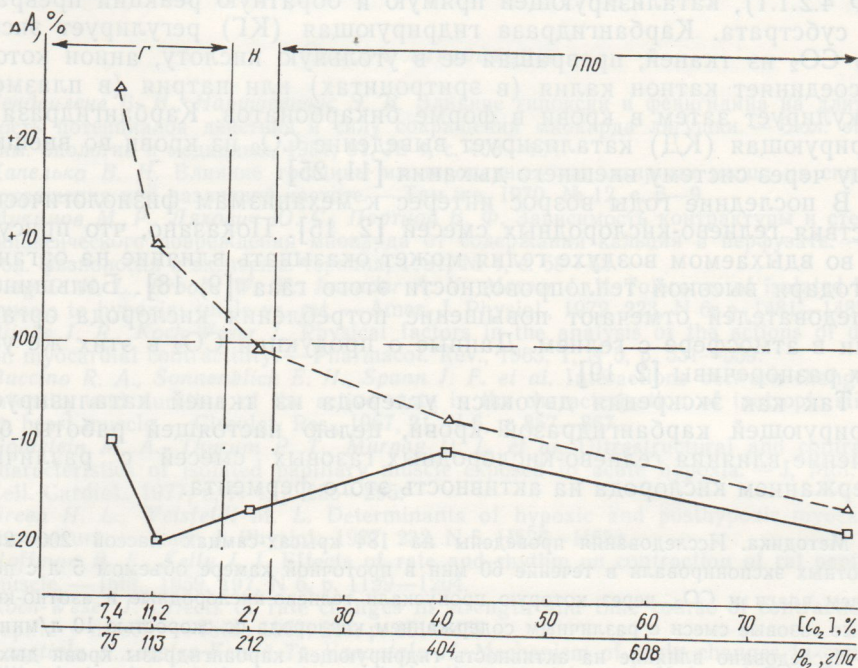


Рис. 1. Изменение активности гидрирующей карбангидразы крови крыс при дыхании азотно-кислородными и гелиево-кислородными смесями с различным содержанием кислорода (в процентах по отношению к исходной величине).

По горизонтали — содержание кислорода в газовой смеси. По вертикали — изменение активности гидрирующей карбангидразы крови в % к исходной величине — ΔA , %. Г — гипоксия, Н — нормоксия, ГПО — гипероксия. Условные обозначения: треугольник — азотно-кислородные смеси; квадрат — гелиево-кислородные смеси.

кислорода, наоборот, сильнее активировали карбангидразу по сравнению с умеренно-гипоксической (11,2 %) газовой смесью. Разнонаправленность изменения активности фермента под влиянием гелиево-кислородной и азотно-кислородной газовых смесей при парциальном давлении кислорода 75 гПа (7,4 % O_2) создает значительное различие между «гелиевой» и «азотной» группами животных (рис. 1, Г), которое достигает 36,6 % ($p < 0,05$).

Гелиево-кислородные и азотно-кислородные смеси, содержащие 40 % кислорода ($P_{O_2} = 404$ гПа) угнетали активность гидрирующей карбангидразы практически в одинаковой степени (на 12 и 8 % соответственно) по сравнению с интактными животными. По мере возрастания парциального давления кислорода (810 гПа) степень депрессии карбангидразы увеличивалась (рис. 1, ГПО). Различие в изменении активности фермента между «гелиевой» и «азотной» группами животных уменьшилось до 2,0 % и статистически не достоверно.

Отличительным физико-химическим свойством гелия, изменяющим интенсивность потребления кислорода и метаболизма, многие авторы считают его высокую теплопроводность. Это свойство гелия, усиливая теплоотдачу, способствует снижению температуры тела [10, 16]. Увеличение теплоотдачи повышает потребление кислорода и снижает величину дыхательного коэффициента [23], что и наблюдали при изучении влияния гелийсодержащих смесей на организм большинство исследователей [7, 20]. Показано также, что в условиях легкой и глубокой гипотермии при нормальном парциальном давлении кислорода во дыха-

емом воздухе происходит снижение активности карбангидразы [6]. Следовательно, угнетение активности гидрирующей карбангидразы под влиянием гелия в условиях нормоксии может быть обусловлено усилением липогенеза, так как в организме гомойотермных животных поддержание постоянства температуры тела связано с непрерывно повторяющимся циклом превращения триглицеридов [4]. В этом процессе двуокись углерода играет роль катализатора удлинения цепи жирной кислоты, а также используется для образования карбамил-фосфата — начального фрагмента синтеза пиридиннуклеотидов [24].

Результаты, полученные нами в опытах с гипоксическими азотно-кислородными смесями (11,2 и 7,4 % кислорода в азоте), согласуются с данными других авторов, исследовавших активность карбангидразы в условиях разрежения воздуха, для которых характерно активирование фермента [17, 21]. Высокий уровень экскреции двуокиси углерода из тканей обусловлен, очевидно, необходимостью ограничения липогенеза, где CO_2 катализирует образование малонил-КоА — начального этапа синтеза жирной кислоты и который требует больших энергозатрат [24]. Такие изменения в организме сдвигают соотношение интенсивности белкового и липидного обмена в сторону белкового обмена, что способствует более экономному и рациональному потреблению кислорода в условиях его дефицита [3].

Гипоксические газовые смеси, содержащие гелий, так же как и нормоксические, существенно угнетали активность гидрирующей карбангидразы крыс, в то время как гипоксические азотно-кислородные смеси активировали карбангидразу гидрирующую. Влияние гелия на активность фермента находится в зависимости от содержания кислорода в смеси. Известно, что дефицит кислорода во вдыхаемом воздухе активизирует физиологические пути регуляции кровообращения, такие как, например, сужение периферических сосудов, направленное на уменьшение транспорта кислорода к периферическим тканям [1]. И хотя гелий обладает высокой теплопроводностью, сужение периферических кровеносных сосудов ограничивает потери тепла и тем самым уменьшает влияние этого газа на активность фермента.

В отношении действия гипероксических азотсодержащих газовых смесей на карбангидразу крови имеются сведения о повышении активности фермента в крови человека [12, 17]. Сведений же об изменении активности карбангидразы крови при дыхании гелиево-кислородными смесями в литературе не имеется. В наших исследованиях 60 мин воздействие гипероксической газовой смеси как в «гелиевом», так и в «азотном» варианте угнетало активность фермента, что согласуется с данными [8] о транспорте CO_2 у животных в атмосфере разной плотности. С ростом плотности среды (в том числе и содержащей гелий) задерживалось выведение CO_2 легкими животных при повышенном его содержании и напряжении в крови. Показатели кислотно-щелочного равновесия при этом не изменялись. Угнетение фермента ограничивает гидрирование CO_2 и образование H_2CO_3 в эритроцитах с последующей ее (угольной кислоты) диссоциацией на ионы H^+ и HCO_3^- , способные вступать в реакции, обуславливающие экскрецию CO_2 из организма. Влияние гелия однонаправлено с влиянием больших концентраций кислорода.

Можно предполагать, что угнетение карбангидразы через 60 мин дыхания газовыми смесями является процессом вторичным, опосредованным предшествующими изменениями межуточного обмена и обуславливается исходной активностью фермента. Об этом свидетельствуют и литературные данные [17]. Промежуточное обследование в более ранние сроки показывает, что уже через 15 мин после вдыхания гипероксической гелиево-кислородной смеси происходит повышение активности гидрирующей карбангидразы, предшествующее угнетению фермента через 60 мин пребывания животных в тех же условиях (рис. 2).

Анализ полученного материала позволяет прийти к выводу, что замена азота гелием во вдыхаемых в течение 60 мин газовых смесях

при парциальном давлении кислорода в диапазоне от 75 до 810 гПа угнетает активность гидрирующей карбангидразы крови крыс. Угнетающие фермента проявляется, вероятно, через модификацию обмена веществ и нелинейно зависит от содержания кислорода в гелиево-кислородной смеси.

Дефицит кислорода во вдыхаемой гелиево-кислородной смеси сдерживает угнетающее фермент влияние гелия, возможно, путем ограничения теплопотерь организмом, посредством включения физиоло-

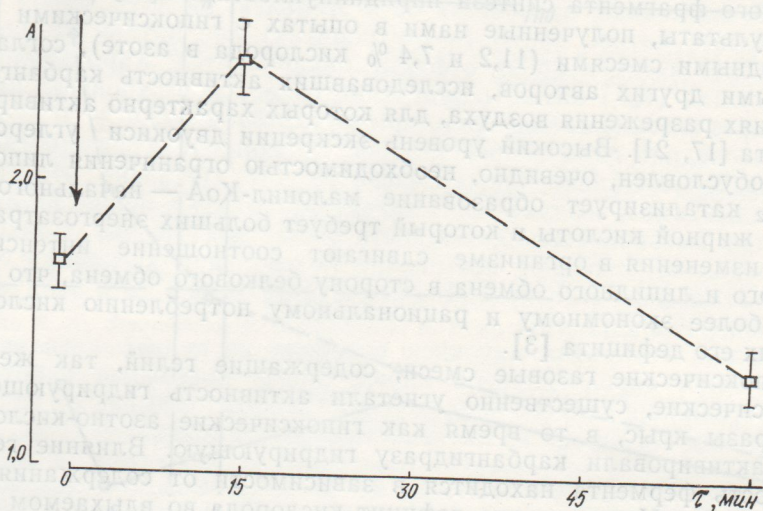


Рис. 2. Динамика изменения активности гидрирующей карбангидразы крови крыс в зависимости от продолжительности дыхания гипероксической (80 % кислорода) гелиево-кислородной смесью.

По горизонтали — продолжительность дыхания гелиево-кислородной смесью. По вертикали слева: активность гидрирующей карбангидразы крови в условных единицах (A). Стрелка — введение гелиево-кислородной смеси.

гических механизмов, стимулируемых гипоксией, таких как сужение кровеносных сосудов в периферических тканях.

Гипероксические смеси как «азотные», так и «гелиевые» одинаково угнетают активность гидрирующей карбангидразы крови. Различия в степени изменения фермента под влиянием гипероксических смесей определяются соотношением содержания кислорода и гелия в них. В случае использования 40 % по кислороду газовой смеси ($P_{O_2} = 404$ гПа) гелий дает более выраженное снижение активности гидрирующей карбангидразы. Использование 80 % по кислороду газовой смеси ($P_{O_2} = 810$ гПа) с примесью гелия или азота тормозит активность гидрирующей карбангидразы практически в одинаковой степени.

Можно предполагать, что угнетение активности гидрирующей карбангидразы крови, обуславливающее снижение выделения двуокиси углерода из тканей, связано с интенсификацией ресинтеза жира, провоцируемого таким физическим свойством гелия, как теплоемкость.

Наименее эффективное влияние примеси гелия в составе гипоксической гелиево-кислородной смеси — 7,4 % кислорода и 92,6 % (!) гелия, — связано, очевидно, с включением физиологических механизмов терморегуляции. Этот вопрос требует дальнейшего изучения в целях предполагаемой целесообразности использования в практике гипоксических гелиево-кислородных газовых смесей по сравнению с нормо- и гипероксическими.

THE INFLUENCE OF BREATHING IN HELIUM-OXYGEN GASEOUS MIXTURES WITH DIFFERENT OXYGEN CONTENT ON THE ACTIVITY OF HYDROGENATING CARBONHYDRASE IN THE RAT BLOOD

The activity of hydrogenating carbonhydrase in the rat blood was inhibited when breathing in normo-, hypo- and hyperoxic helium-containing mixtures. This effect was the least one in the case of breathing in hypoxic (7.4 % O₂) helium-oxygen mixture. A conclusion is made that the change in the hydrogenating carbonhydrase activity under breathing in helium-containing mixtures was a secondary process induced by the necessity to modify metabolism under the altered conditions.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy
of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Барбашова З. И. Акклимация к гипоксии и физиологические механизмы. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1960.—216 с.
2. Березовский В. А., Назаренко А. И., Говоруха Т. Н. Влияние гелия на газообмен и тканевое дыхание. — Физиол. журн., 1982, 28, № 3, с. 353—358.
3. Березовский В. А., Бойко О. А., Клименко О. С. и др. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности. — Киев: Наук. думка, 1978.—216 с.
4. Васильева Е. Д. Особенности обмена жиров у млекопитающих при голодании. — Успехи физиол. наук, 1977, 8, № 3, с. 97—128.
5. Гулий М. Ф., Мельничук Д. А. Роль углекислоты в регуляции обмена веществ у геротрофных организмов. — Киев: Наук. думка, 1978.—244 с.
6. Долгова З. Я. Изменение активности каталазы и угольной ангидразы в условиях легкой и глубокой гипотермии. — Биол. науки, 1981, № 1, с. 30—32.
7. Зимин А. Б., Малиновская Н. С. Потребление кислорода белыми мышами в зависимости от температуры и газового состава при длительном пребывании в условиях гермокамеры. — В кн.: Современные проблемы биохимии дыхания и клиника. Иваново, 1972, т. 2, с. 161—162.
8. Козак В. А., Моисеенко Е. В., Алейникова И. Ф. Експериментальні дослідження динаміки масоперенесення респіраторних газів в організмі при імітації впливу факторів гіпербарії в умовах нормобарії. — В кн.: XI з'їзд Укр. фізіол. т-ва: Тези доп. — К.: Наук. думка, 1982, с. 202—203.
9. Константинов В. А. Некоторые особенности терморегуляции животных в гелио-кислородной среде. — Физиол. журн. СССР, 1974, 60, № 8, с. 1272—1277.
10. Костылев Е. Г., Покровский Г. А., Подмаренкова Л. Ф., Еропкина А. Г. Температура передней поверхности грудной клетки и легочный кровоток у здорового человека при дыхании кислородом и гелий-кислородной смесью. — Косм. биология и авиакосм. медицина, 1980, № 5, с. 95—98.
11. Крепс Е. М. Дыхательный фермент — угольная ангидраза и его значение в физиологии и патологии. — Успехи соврем. биологии, 1944, 17, вып. 2, с. 125—126.
12. Крепс Е. М. О физиологической регуляции активности угольной ангидразы в крови и тканях. — Физиол. журн. СССР, 1946, 32, № 5, с. 589—598.
13. Маршак М. Е. Физиологическое значение углекислоты. — М.: Медицина, 1969. — 144 с.
14. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1964, № 4, с. 71—78.
15. Огородникова Л. Г. Гелиокислородная смесь и организм. — Косм. биология и авиакосм. медицина, 1979, 13, № 3, с. 3—10.
16. Острейков И. Ф. Применение гелий-кислородных смесей у детей в послеоперационном периоде. — Вестн. АМН СССР, 1972, № 7, с. 13—16.
17. Пигарева З. Д. Изменение активности угольной ангидразы в крови животных. — Тр. физиол. ин-та им. И. П. Павлова, 1947, 2, с. 77—89.
18. Покровский Г. А., Костылев Е. Г., Ильшева Г. Н., Карпова Л. Е. О состоянии некоторых показателей калликренкининовой системы у человека во время искусственной вентиляции гелий-кислородной смесью в условиях общей анестезии. — Анестезиология и реаниматология, 1980, № 3, с. 33—34.
19. Розова Е. В., Клименко О. С., Назаренко А. И. К вопросу о влиянии гелио-кислородных газовых смесей на внешнее и тканевое дыхание. — В кн.: Актуальные проблемы современной патофизиологии: К 100-летию со дня рождения А. А. Богомольца. Киев: Наук. думка, 1981, с. 302—303.
20. Трошихин Г. В. Терморегуляционные реакции у животных в гелио-кислородной среде. — Косм. биология и авиакосм. медицина, 1972, № 5, с. 84—86.
21. Чечыкаева Е. Ю. Дальнейшее изучение роли нервной системы в регуляции активности карбангидразы. — Физиол. журн. СССР, 1954, 60, № 1, с. 70—75.
22. Beil S. C., Longbando G. S. Oxygen and carbon dioxide gas stores of the body. — Physiol. Rev., 1970, 50, N 2, p. 196—222.
23. Lafrance L., Lagace G., Bouthier D. The acid turnover and oxygen consumption. Effects